

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06440

研究課題名(和文) 嗅結節による摂食行動制御の神経メカニズムとホメオスタシス

研究課題名(英文) Involvement of the olfactory tubercle in homeostatic regulation of feeding behavior

研究代表者

村田 航志 (Murata, Koshi)

福井大学・学術研究院医学系部門・助教

研究者番号：10631913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では嗅結節のホメオスタティックな働きが摂食行動に与える影響を調査した。マウス嗅結節ではオレキシン受容体遺伝子Hcrtr2がIslands of Calleja、ドーパミン受容体D1ニューロンならびにD2ニューロンに発現した。ラット嗅結節前内側ドメインにオレキシンペプチドを局所注入すると、味覚反応試験において砂糖水呈示時に'Like'反応(飲水様行動)が強化された。マウス嗅結節前内側ドメインには、オピオイド前駆体遺伝子PdynならびにPenkを共発現するD1ニューロンが高頻度に出現した。これらの研究成果は空腹時に食べ物の匂い・風味がよりおいしく感じる神経メカニズムに新たな知見をもたらす。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、嗅結節が摂食行動の制御において重要な役割を果たすことを示し、その神経メカニズムの理解を深めるものである。摂食関連ホルモンとして知られるオレキシンペプチドの嗅結節における作用点や役割を解明し、さらに嗅結節オピオイド前駆体遺伝子の発現様式から、嗅結節前内側ドメインが体内のホルモン変動によるホメオスタティックな制御を受けて摂食行動を制御する機能をもつことが示された。これらの知見は、拒食症や肥満などの病的な食行動の予防や治療への新たなアプローチをもたらすと期待される。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the role of the olfactory tubercle (OT) in regulating eating behavior and its homeostatic control. We histologically identified the expression of orexin receptors and opioid precursor genes in the OT. Orexin receptor Hcrtr2 expression was observed in the Islands of Calleja and dense cell layer of the mouse OT. We discovered dopamine receptor D1 neurons co-expressing Pdyn and Penk in the OT anteromedial domain. In addition, local injection of orexin into the rat OT enhanced "liking" reactions revealed by a taste reactivity test, indicating that the anteromedial domain of the OT is involved in the formation of food-related reward responses. These results suggest that the OT plays a significant role in the homeostatic regulation of eating behavior, providing new insights into the neural mechanisms underlying olfactory-driven feeding behaviors. This research implies developing novel approaches to treat eating disorders and managing healthy eating habits.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 嗅結節 ホメオスタシス 摂食行動 ドーパミン受容体 オレキシン オピオイド

1. 研究開始当初の背景

同じ感覚刺激でも個人の生理的状态によって感じ方は変わりうる。この現象は Alliesthesia (感覚変化)とよばれ、嗅覚でも生じる。例えば食べ放題の焼き肉の匂いは入店時はおいしそうに感じるが、お腹がいっぱいになると不快にすら感じることもある。不足した栄養の摂取をうながし、過剰な栄養の摂取を抑える一種のホメオスタシスだと言えるが、空腹・満腹状態に応じて匂い刺激への行動反応を変化させる神経メカニズムはまだよくわかっていない。適度な食事は健康な生活に必須であり、拒食症も肥満も深刻な社会問題である。嗅覚による食欲惹起とそのホメオスタシス制御の神経メカニズムの理解は、病的な食行動の予防と治療への大事なステップだといえる。

近年の研究により、匂いの誘引性と忌避性を形成する神経メカニズムの理解が進んできた。嗅結節 (olfactory tubercle) は腹側被蓋野由来のドーパミン入力と嗅覚入力の両方を受ける腹側線条体領域である。嗅結節が依存性薬物への嗜好性などの報酬行動の獲得に関わることは以前から報告されていた。その後の研究で嗅結節には領域と細胞種で規定される機能ドメインがあり、ドメインの匂い応答性は学習により変化することがわかった。食べ物と関連付けた匂いへマウスが誘引行動を示すと、嗅結節では前内側ドメインのドーパミン受容体 D1 発現ニューロンが最初期遺伝子 c-fos を発現応答する。同じ匂いでも電気ショックと関連付けて忌避行動を示した場合では、嗅結節では外側ドメインの D1 発現ニューロンと前内側ドメインの D2 発現ニューロンが c-fos 発現応答する。

嗅結節とともに腹側線条体を構成する側坐核 (nucleus accumbens) には摂食行動制御の点で領域間の機能差がある。前内側部は摂食行動を促進し、後内側部は抑制する。嗅結節は側坐核と同様に腹側淡蒼球へ GABA を出力する。この神経解剖学的な共通点から嗅結節も動物の摂食行動の制御に関わると予想された。また嗅結節は側坐核と異なり嗅覚入力を嗅球ならびに嗅皮質から直接的に受けるため、嗅結節は食べ物の匂いで誘起される摂食行動を適切に制御する役割があると考えられた。さらに嗅結節では種々の摂食に関わるホルモンとその受容体の mRNA が発現することが生化学的なアプローチで実証された。これらの背景を踏まえて、我々は嗅結節のホメオスタティックな神経活動の変化が空腹時は食べ物の匂いをおいしそうに感じ、満腹時はあまりおいしそうに感じない脳の仕組みに関わると予想し本研究を開始した。

2. 研究の目的

嗅結節のホメオスタティックな働きと空腹状態に応じた食べ物の匂いの感じ方に関して、我々は下記の研究を立案・実施した。

(1) マウス嗅結節における摂食関連ホルモン受容体の mRNA 発現細胞の同定

嗅結節での摂食関連ホルモン受容体の mRNA 発現は定量 PCR で確認されていたが、どの神経細胞種が各受容体を発現するかまでは明らかにされていなかった。本研究では摂食関連ホルモンのうちオレキシンの受容体に着目し、2種のオレキシン受容体遺伝子 (Hcrtr1 / Hcrtr2) を発現する嗅結節ニューロンの細胞種同定を目的とした。

(2) ラット嗅結節へのオレキシンの作用：おいしさ反応における嗅結節ドメイン間の機能差

実験動物でおいしさ反応を評価する方法として味覚反応試験 (taste reactivity test) がある。この方法では動物の口腔内にカニキュレを留置し、外部から砂糖水の甘味やキニーネ水の苦味を提示、表情を含む身体反応から 'Like' (おいしい) と 'Disgust' (まずい) を判定し動物の嗜好反応を評価する。側坐核では前内側シェル領域にオレキシンペプチドを局所投与すると砂糖水呈示時の 'Like' 反応 (飲水様行動) が強化されることが知られていた。嗅結節でも特に前内側ドメインにおいてオレキシンペプチドが 'Like' 反応を増強させるかを検証した。

(3) マウス嗅結節ドメインにおけるオピオイド前駆体遺伝子発現

(2) で記述した味覚反応試験における 'Like' 反応はオピオイド受容体遮断薬投与で減弱されることから、'Like' 反応には内在性オピオイドが関わる。嗅結節を含む線条体領域は内在性オピオイドの高発現部位であり、ダイノルフィン類とエンケファリン類の前駆体遺伝子 Pdyn ならびに Penk が発現する。また背側線条体と側坐核では Pdyn と Penk を発現する神経細胞種が同定されており、Pdyn は主にドーパミン受容体 D1 発現ニューロンが、Penk は D2 発現ニューロンが発現する。嗅結節における Pdyn, Penk 発現様式はこれまで報告されていなかったため、本研究で両遺伝子を発現する神経細胞種の同定を実施した。

3. 研究の方法

(1) マウス嗅結節における摂食関連ホルモン受容体の mRNA 発現細胞の同定

in situ ハイブリダイゼーション法により、2種のオレキシン受容体遺伝子 (Hcrtr1 / Hcrtr2) の発現様式をマウス嗅結節ニューロンで評価した。はじめにジゴキシゲニン (DIG) 標識された

合成オリゴヌクレオチドによる *in situ* ハイブリダイゼーション法で Hcrtr1 および Hcrtr2 の発現をマウス嗅結節で評価したが、両遺伝子とも mRNA 発現量が検出感度未満であった。そこでより感度の高い標識方法である RNAscope を導入し、Hcrtr1 および Hcrtr2 の発現様式を解析した。

(2) ラット嗅結節へのオレキシンの作用：おいしさ反応における嗅結節ドメイン間の機能差

ラットで味覚反応試験を実施するため口腔カニューレを留置し、頭部から口腔への砂糖水呈示を実施した。オピオイドペプチドを嗅結節に局所注入するため脳内カニューレを留置した。脳内カニューレは嗅結節前内側ドメインもしくは前外側ドメインを標的とした。オピオイドペプチドを嗅結節に局所注入し、25 分後に味覚反応試験を実施した。対照実験としてはオピオイドペプチドの溶剤に用いた人工脳脊髄液 (ACSF) を単独で注入した状態で味覚反応試験を実施した。

(3) マウス嗅結節ドメインにおけるオピオイド前駆体遺伝子発現

蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法により、オピオイド前駆体遺伝子 Pdyn, Penk ならびにドーパミン受容体 D1 遺伝子 Drd1, ドーパミン受容体 D2 遺伝子 Drd2 の多重標識をマウス嗅結節で実施した。後述するように Pdyn と Penk を共発現する D1 発現ニューロンの存在が示唆されたことから、3 遺伝子を同時に多重蛍光標識する染色方法を開発し、Pdyn-Penk-Drd1 の 3 重発現の検証を可能にした。

4. 研究成果

(1) マウス嗅結節における摂食関連ホルモン受容体の mRNA 発現細胞の同定

Hcrtr1 については RNAscope でも十分なシグナルが得られず、マウス嗅結節においては発現がない、もしくは非常に低い発現であることがわかった。Hcrtr2 はマウス嗅結節においてシグナルが観察され、特に Islands of Calleja とよばれる領域において発現が相対的に高かった。嗅結節の第 II 層 (dense cell layer) においても Hcrtr2 由来のシグナルは観察された。嗅結節第 II 層にはドーパミン受容体 D1 発現ニューロンと D2 発現ニューロンが分布し、どちらの細胞種が Hcrtr2 を発現するかを Drd1 もしくは Drd2 遺伝子との 2 重標識で評価した。その結果、D1 発現ニューロンと D2 発現ニューロンの両方が Hcrtr2 を発現することがわかった。

(2) ラット嗅結節へのオレキシンの作用：おいしさ反応における嗅結節ドメイン間の機能差

オレキシンペプチドの嗅結節に局所注入による行動変化を評価したところ、前内側ドメインに投与した場合は味覚反応試験における 'Like' 反応 (飲水様行動) が増強した。嗅結節の別領域 (前外側ドメイン) にオレキシンペプチドを局所注入した場合は、'Like' 反応は増強されなかった。この結果は嗅結節前内側ドメインがおいしさ形成に関わる可能性を示す。

(3) マウス嗅結節ドメインにおけるオピオイド前駆体遺伝子発現

マウス嗅結節における Pdyn と Penk の発現様式は他の線条体領域と類似しており、概要としては D1 発現ニューロンは Pdyn を、D2 発現ニューロンは Penk を発現した。さらに本研究では Pdyn と Penk を共発現する D1 発現ニューロンを嗅結節で見出し、同ニューロン群は嗅結節の前内側ドメインに高頻度に分布することを見出した。

以上の成果をまとめると、(1) 嗅結節にはオレキシン受容体が発現すること、(2) 嗅結節前内側ドメインにオレキシンが作用すると味覚反応試験におけるおいしさ反応が増強すること、(3) 嗅結節前内側ドメインには Pdyn と Penk を共発現する D1 発現ニューロンが存在することがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Maegawa Ayako, Murata Koshi, Kuroda Kazuki, Fujieda Shigeharu, Fukazawa Yugo	4. 巻 16
2. 論文標題 Cellular Profiles of Prodynorphin and Preproenkephalin mRNA-Expressing Neurons in the Anterior Olfactory Tubercle of Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncir.2022.908964	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Tatsuya, Murata Koshi, Okuda Hiroaki, Potapenko Ilia, Hori Kiyomi, Furuyama Takafumi, Yamamoto Ryo, Ono Munenori, Kato Nobuo, Fukazawa Yugo, Ozaki Noriyuki	4. 巻 26
2. 論文標題 Pain-related neuronal ensembles in the primary somatosensory cortex contribute to hyperalgesia and anxiety	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106332 ~ 106332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.106332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lee Jason Y., Jun Heechul, Soma Shogo, Nakazono Tomoaki, Shiraiwa Kaori, Dasgupta Ananya, Nakagawa Tatsuki, Xie Jiayun L., Chavez Jasmine, Romo Rodrigo, Yungblut Sandra, Hagihara Meiko, Murata Koshi, Igarashi Kei M.	4. 巻 598
2. 論文標題 Dopamine facilitates associative memory encoding in the entorhinal cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 321 ~ 326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-021-03948-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Xie Min-Jue, Iwata Keiko, Ishikawa Yasuyuki, Nomura Yuki, Tani Tomomi, Murata Koshi, Fukazawa Yugo, Matsuzaki Hideo	4. 巻 12
2. 論文標題 Autistic-Like Behavior and Impairment of Serotonin Transporter and AMPA Receptor Trafficking in N-Ethylmaleimide Sensitive Factor Gene-Deficient Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fgene.2021.748627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyata Kohei, Ikoma Yoko, Murata Koshi, Kusumoto-Yoshida Ikue, Kobayashi Kenta, Kuwaki Tomoyuki, Ootsuka Youichirou	4. 巻 12
2. 論文標題 Multifaceted roles of orexin neurons in mediating methamphetamine-induced changes in body temperature and heart rate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IBRO Neuroscience Reports	6. 最初と最後の頁 108 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ibneur.2022.01.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Arai Masami, Suzuki Etsuko, Kitamura Satoshi, Otaki Momoyo, Kanai Kaori, Yamasaki Miwako, Watanabe Masahiko, Kambe Yuki, Murata Koshi, 他16名	4. 巻 44
2. 論文標題 Enhancement of Haloperidol-Induced Catalepsy by GPR143, an L-Dopa Receptor, in Striatal Cholinergic Interneurons	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 e1504232024
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1504-23.2024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiotani Kazuki, Tanisumi Yuta, Osako Yuma, Murata Koshi, Hirokawa Junya, Sakurai Yoshio, Manabe Hiroyuki	4. 巻 27
2. 論文標題 An intra-oral flavor detection task in freely moving mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 108924 ~ 108924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2024.108924	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murata Koshi, Maegawa Ayako, Imoto Yoshimasa, Fujieda Shigeharu, Fukazawa Yugo	4. 巻 18
2. 論文標題 Endogenous opioids in the olfactory tubercle and their roles in olfaction and quality of life	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncir.2024.1408189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村田 航志
2. 発表標題 嗅覚と食へのモチベーションの神経機構
3. 学会等名 日本味と匂学会 第56回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村田 航志
2. 発表標題 ラット超音波発声のおいしさ反応測定への利用可能性
3. 学会等名 2022生理研研究会 心的状態の理解に向けた行動・生理的指標の計測と解析（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村田航志、池戸優希、領家崇、黒田一樹、吉村仁志、深澤有吾
2. 発表標題 嗜好性の高い食事はラットの50-kHz超音波発声を促進する
3. 学会等名 Neuro 2022（第45回 日本神経科学大会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前川文字、村田航志、加藤幸宜、加藤永一、領家崇、酒井涼、高林哲司、黒田一樹、藤枝重治、深澤有吾
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎モデルマウスにおける嗅覚障害の評価
3. 学会等名 日本味と匂学会 第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池戸優希、村田航志、領家崇、塩谷和基、眞部寛之、黒田一樹、吉村仁志、深澤有吾
2. 発表標題 ラット超音波発声によるおいしさ反応測定の試み
3. 学会等名 日本味と匂学会 第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村田 航志
2. 発表標題 マウス嗅結節における食へのモチベーション形成の神経メカニズム
3. 学会等名 2022日本農芸化学京都大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村田 航志、黒田 一樹、深澤 有吾
2. 発表標題 プロダイノルフィンおよびプレプロエンケファリンを発現するマウス嗅結節ニューロンの細胞種の同定
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塩谷 和基、谷隅 勇太、村田 航志、廣川 純也、櫻井 芳雄、眞部 寛之
2. 発表標題 嗅皮質の腹側テニアテクタ神経細胞は、目標指向的行動において行動状態をコードする
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 深澤 有吾、エルハンバリー ルワイダ、石川 達也、村田 航志、黒田 一樹
2. 発表標題 シナプス結合における協調的前後構造の構築を支える分子メカニズムの解析
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前川文子、村田航志、黒田一樹、藤枝重治、深澤有吾
2. 発表標題 マウス嗅結節におけるプロダイノルフィンならびにプレプロエンケファリンを発現する細胞種の同定
3. 学会等名 2021年度 日本味と匂学会 第55回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井 涼、村田航志、黒田一樹、領家 崇、深澤有吾
2. 発表標題 感覚運動障害を呈する新規内包出血モデルラットの確立と病態解析
3. 学会等名 第55回日本作業療法学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村田航志、前川文子、黒田一樹、藤枝重治、深澤有吾
2. 発表標題 プロダイノルフィンならびにプレプロエンケファリンを発現するマウス嗅結節ニューロン種の同定
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 動物用の運動訓練評価装置	発明者 深澤有吾、酒井涼、 黒田一樹、村田航 志、領家崇、靈河秀	権利者 国立大学法人福 井大学
産業財産権の種類、番号 実用新案、3234861	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	眞部 寛之 (Manabe Hiroyuki) (80511386)	同志社大学・研究開発推進機構・准教授 (34310)	
研究 分担者	塩谷 和基 (Shiotani Kazuki) (90907015)	立命館大学・生命科学部・助教 (34315)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------